Rev. Écol. Biol. Sol, 1991, **28** (2) : 125-131.

Étude expérimentale de la recolonisation par les protozoaires d'un sol stérilisé
I. — Diversification du peuplement de ciliés*

PAR

L. PALKA

Muséum National d'Histoire Naturelle,
Laboratoire d'Écologie Générale, URA 689 CNRS,
4, avenue du Petit Château, 91800 Brunoy, France

Synopsis: Soil samples from a forest humus were sterilized either with propylene oxide, or autoclaved or gamma-irradiated and then amended with untreated humus. The subsequent growth of ciliates was checked with regard to the community structure which showed marked changes among the treatments. 6 species each were found in fumigated and autoclaved humus and 10 species in irradiated humus. Three edaphic groups appeared, *i.e.* "indifferent", "semi-sensitive" and "sensitive", with respect to the variations of edaphic conditions. The ecological signification of these groups is discussed.

Keywords: Protozoa, ciliophora, ecological group, colonization, humus, sterilization.

INTRODUCTION

Parmi les protozoaires du sol, les ciliés sont les moins abondants du point de vue de la densité des populations (BAMFORTH, 1980), entre 10 et 1 000 individus par gramme de sol sec, soit 10 à 100 fois moins que les rhizopodes ou les flagellés (BAMFORTH, 1971). Cette faible activité des ciliés contraste cependant avec un grand nombre d'espèces, actuellement de l'ordre de 300 selon FOISSNER (1987). BAMFORTH (1971) en recense 48 dans 23 sites différents tandis que STOUT (1984) fait état de 57 espèces ciliées sur 94 répertoriées dans un sol de prairie, soit 3 à 4 fois plus que d'amibes nues ou de thécamoebiens. Il convient donc de s'interroger sur la signification écologique de ce contraste, notamment dans les sols forestiers où la richesse

* Article écrit en hommage au Professeur Claude DELAMARE DEBOUTTEVILLE, l'un des fondateurs de la zoologie du sol.

spécifique des peuplements de ciliés serait plus grande que dans les sols de prairie ou cultivés (STOUT, 1967, FOISSNER, 1987). En fait, les ciliés au sein des communautés de protozoaires, et dans les processus pédobiologiques, ne sont pris en compte qu'en fonction de leur densité de population relativement faible, ce qui conduit peut-être à sous-estimer leur présence et par conséquent leur rôle.

La relation entre diversité spécifique et abondance a été abordée en suivant la recolonisation des ciliés dans un humus forestier tempéré préalablement soumis à différents types de traitements, chimique (oxyde de propylène), thermique (autoclave) ou irradiant (rayons gamma). Ce travail a fait partie d'une étude méthodologique pour le choix d'une méthode de stérilisation du sol favorable à la recolonisation des protozoaires (PALKA & COUTEAUX, 1986, PALKA, 1988). L'étude a pris en compte à la fois la structure du peuplement suivant le traitement, en relevant la présence ou l'absence des espèces, et la dynamique des populations. Les résultats présentés ici concernent uniquement l'analyse faunistique.

I. – MATÉRIEL ET MÉTHODES

A) Nature et caractéristiques du sol

Le sol utilisé se compose d'un mélange des couches F et H d'un humus de type dysmoder de la forêt de Fontainebleau (Station biologique de Foljuif, France) sous chênaie-charmaie [*Quercus petraea* (Mattus) Liebl., *Carpinus betulus* (L.)]. Le mélange a été tamisé à 2 mm puis stocké à 5°C à l'abri de l'évaporation. Le pH (H_2O) est de $4{,}70 \pm 0{,}13$, les teneurs totales en azote et en carbone sont respectivement 1,3 et 28 %.

B) Conditionnement et traitement du sol

L'humus a été réparti dans des seringues de 10 cm^3 selon la méthode de COÛTEAUX (1984), soit l'équivalent de 1,5 g de sol sec (séché 24 heures à 105°C) placé entre une pastille d'altuglass perforée et une pièce mobile à joint torique munie d'une soie à bluter à mailles de 75 µm. La porosité a été ajustée à 0,25 et la teneur en eau portée à 300 %. Ce taux d'humidité correspond à pF 1 (eau de gravité).

L'humus a été traité soit par fumigation à l'oxyde de propylène pendant 48 h puis aéré, soit autoclavé deux fois 20 minutes à 120°C ou irradié par les rayons gamma à 5 Mrad. Les conditions de traitement sont décrites par PALKA et COÛTEAUX (1986).

C) Détermination des espèces

Les ciliés ont été imprégnés au protéinate d'argent par la méthode de Bodian modifiée par TUFFRAU (1967) pour les hypotriches ou par la méthode de Bodian modifiée par GROLIÈRE (1980) pour les autres formes. La détermination a été obtenue d'après FOISSNER (1980, 1982, 1986).

D) Conditions d'expérience et rythme des observations

L'humus a été réparti dans 54 seringues, soit 18 par type de traitement, chaque seringue étant totalement utilisée pour chaque observation. L'humus ainsi conditionné a été ensemencé d'abord avec une microflore mixte puis 7 jours après avec les protozoaires indigènes. La

microflore a été obtenue à partir d'une suspension d'humus incubée 48 heures à 25°C puis filtrée à 2 µm (Millipore Filter Corporation, Bedford, Massachussets, 01730). Les protozoaires ont été introduits en ajoutant à chaque seringue 0,5 g d'humus non traité, soit 0,16 g de sol sec.

Les observations ont été menées à partir de doubles dilutions réalisées pour le comptage des ciliés après 1, 3, 7, 14, 21 et 28 jours d'incubation à 20°C, avec 3 répétitions.

II. — RÉSULTATS

A) Diversité spécifique globale

La diversité spécifique du sol non traité n'a pas été déterminée. Au moment de l'amendement, seuls quelques colpodes étaient présents sous forme trophozoïte. Par la suite, 11 espèces dominantes se sont développées dans les 3 traitements

TAB. I. — **Composition spécifique du peuplement de ciliés dans l'humus fumigé (A), autoclavé (B), irradié (C): + : présence; — : absence.**

Taxons	A	B	C
Colpoda aspera Kahl, 1926	+	+	+
C. inflata Stokes, 1885	+	+	+
Paracolpoda steinii Maupas, 1883	+	+	+
Gonostonum affine Stein, 1859	+	+	+
Urosomoida agiliformis Foissner, 1982	+	+	—
Drepanomonas sp.	—	+	+
Blepharisma sp.	+	—	+
Chilodonella uncinata Ehrenberg, 1838	—	—	+
Holosticha adami Foissner, 1982	—	—	+
H. multistilata Kahl, 1928	—	—	+
Spathidium sp.	—	—	+

(tab. I). Elles appartiennent essentiellement à l'ordre Colpodida (*Colpoda aspera*, *C. inflata*, *Paracolpoda steinii*) et Hypotrichida (*Gonostomum affine*, *Urosomoida agiliformis*, *Holosticha adami*, *H. multistilata*). D'autres espèces ont été également mises en évidence (*Drepanomonas* sp., *Blepharisma* sp., *Chilodonella uncinata* et *Spathidium* sp.). Cette liste fait partie du peuplement de ciliés présent dans l'humus introduit, et servira de base pour la comparaison entre les traitements.

B) Diversité spécifique suivant les traitements

La distribution des espèces pour chaque traitement (tab. I) a été la suivante :

— humus fumigé : Le peuplement s'est composé de 6 espèces *C. aspera*, *C. inflata*, *P. steinii*, *G. affine*, *U. agiliformis* et *Blepharisma* sp.;

— humus autoclavé : 6 espèces se sont également développées, celles citées précèdemment exceptée *Blepharisma* sp. remplacée par *Drepanomonas* sp.;

— humus irradié : 10 espèces ont été observées, celles déjà rencontrées dans l'humus fumigé ou autoclavé exceptée *U. agiliformis*. De nouvelles formes ont été mises en évidence, *C. uncinata*, *H. adami*, *H. multistilata* et *Spathidium* sp.

C. aspera, *C. inflata*, *P. steinii*, *G. affine* et *Blepharisma* sp. ont été présentes dans les 3 traitements tandis que *U. agiliformis* l'a été seulement dans l'humus fumigé ou autoclavé, *Drepanomonas* sp. dans celui autoclavé ou irradié, et *Blepharisma* sp. dans l'humus fumigé ou irradié. *H. adami*, *H. multistilata*, *C. uncinata* et *Spathidium* sp. ont été observées uniquement dans l'humus irradié. La diversité spécifique a donc été plus grande dans l'humus irradié, et pratiquement analogue dans l'humus fumigé ou autoclavé puisque la liste diffère seulement par une espèce. Par ailleurs, on distingue 3 groupes faunistiques basés sur la capacité des espèces à supporter les modifications édaphiques provoquées par les différents traitements :

– un groupe d'espèces « indifférentes », présentes dans l'humus quelles que soient les conditions édaphiques (*C. aspera*, *C. inflata*, *P. steinii* et *G. affine*);

– un groupe d'espèces « sensibles », observées uniquement dans un seul et même traitement (*Chilodonella uncinata*, *H. adami*, *H. multistilata* et *Spathidium* sp.);

– un groupe intermédiaire de formes « peu sensibles » qui se sont développées dans 2 traitements sur 3 (*U. agiliformis*, *Drepanomonas* sp. et *Blepharisma* sp.).

III. – DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les horizons superficiels du sol contiennent un grand nombre d'espèces de ciliés. Dans le cas présent, 11 espèces ont été recensées, ce qui semble peu pour un site forestier par rapport aux 57 estimées par STOUT (1984) dans un sol de prairie. Bien que ce nombre soit du même ordre de grandeur que celui obtenu par PETZ et FOISSNER (1989) sous pessière, la faible quantité de sol introduite dans chaque microcosme (0,16 g de sol sec), ainsi que la durée des observations limitée à 28 jours ont certainement contribué à sous-estimer la richesse spécifique.

La diversité spécifique des ciliés, essentiellement sous forme enkystée d'après FOISSNER (1987), constitue un potentiel permettant au peuplement d'ajuster sa composition aux modifications des niches, du point de vue de l'habitat ou des ressources alimentaires. C'est le cas lorsqu'un sol mal drainé est immergé pendant une période de l'année, ce qui entraîne l'apparition de formes typiquement lacustres d'après STOUT (1984). De la même façon, l'épandage de pesticides provoque des changements graduels dans la structure du peuplement qui peuvent se traduire par une forte diminution de l'indice de diversité de Shannon-Weaver (PETZ & FOISSNER, 1989).

Dans le cas présent, la fumigation à l'oxyde de propylène et l'autoclavage ont provoqué des modifications physico-chimiques très différentes : une augmentation significative du pH dans l'humus fumigé et une diminution dans celui autoclavé (PALKA & COÛTEAUX, 1986), ainsi qu'une recolonisation bactérienne stimulée dans l'humus fumigé et temporairement inhibée dans l'humus autoclavé (PALKA, 1988). De telles modifications se sont traduites par le développement d'espèces « indifférentes » ou « peu sensibles » (tab. I). Parmi les premières, la présence de Colpodidae n'est pas surprenante. En effet, *Colpoda* est ubiquiste (BAMFORTH, 1969, 1971) et supporte des conditions d'environnement extrêmes (STOUT, 1955, 1956). Sa large répartition a d'ailleurs conduit FOISSNER (1987) à proposer le nom « Colpodetea » pour désigner le peuplement de ciliés du sol. PETZ et FOISSNER (1989) montrent par ailleurs que *P. steinii* est le cilié qui résiste le mieux à de fortes

doses d'insecticide. En ce qui concerne l'humus irradié, le traitement par les rayons gamma n'a pas modifié le pH tandis que la densité des bactéries est restée à un niveau moyen entre 10^7 et 10^8 g^{-1} s.s (PALKA, 1988). De telles conditions ont coïncidé avec l'apparition d'espèces absentes dans l'humus fumigé ou autoclavé, des formes « sensibles » parmi lesquelles de grands hypotriches comme le genre *Holosticha*.

Certains auteurs distinguent également 3 groupes écologiques parmi les ciliés, soit en fonction de la capacité d'adaptation au sol (typiquement édaphiques, aquatiques, semi-aquatiques) selon STOUT (1984) – classification critiquée toutefois par FOISSNER (1987) – soit en fonction du régime alimentaire (bactérivores, fongivores, omnivores) d'après PETZ et FOISSNER (1989).

Par comparaison, on constate que les espèces « indifférentes » présentes dans l'humus fumigé, autoclavé et irradié (*C. aspera*, *C. inflata*, *P. steinii* et *G. affine*) font partie du groupe de ciliés typiquement édaphiques appelé « edaphic cosmopolitan » par STOUT (1984). D'après FOISSNER (1987), les Colpodidae seraient effectivement adaptés au sol de même que certains hypotriches (*Urosomoida*) pour lesquels l'allure vermiforme constituerait une caractéristique adaptative. Cependant, DARBYSHIRE (1976) montre que *P. steinii* se développe d'autant mieux que le pF est faible, donc que le sol est inondé, ce qui laisse supposer que cette espèce serait plutôt aquatique ou semi-aquatique. En fait, la question est de savoir s'il existe des espèces, non pas typiquement, mais strictement édaphiques, c'est-à-dire capables de se développer uniquement entre pF 1 et 4,7. En effet, en deçà de pF 1, il s'agit de conditions lacustres (eaux douces) et au-delà de pF 4,7 de conditions atmosphériques (VANNIER, 1971). Or, entre pF 1 et 4,7, les échanges osmotiques sont de plus en plus soumis aux forces de rétention de l'eau, contraitement au milieu lacustre où cette conrainte n'existe pas. De fait, on peut supposer que l'adaptation des ciliés aux conditions édaphiques se traduise – en partie – par une pression osmotique interne plus élevée que chez les formes aquatiques, comme c'est le cas chez les arthropodes (VANNIER, 1978). Les ciliés strictement édaphiques seraient alors sensibles à la turgescence. Dans cette hypothèse, la mise en suspension du sol pour les observations ou les comptages amènerait à ne recenser ou ne dénombrer que les formes aquatiques ou semi-aquatiques.

Dans le cas présent, l'humus est saturé en eau (pF 1). Il ne s'agit donc pas de conditions édaphiques mais lacustres. Notre expérience ne peut donc prétendre illustrer la diversité des espèces édaphiques. Néanmoins, elle souligne le potentiel de diversification du peuplement de ciliés présent dans un sol forestier. D'autre part, grâce à la description du régime alimentaire des ciliés donnée par FOISSNER (1987), il semblerait que les espèces « indifférentes » et « peu sensibles » soient bactérivores, c'est-à-dire des consommateurs primaires, tandis que les formes « sensibles » (*Holosticha* ou *Spathidium*) seraient omnivores, c'est-à-dire des consommateurs secondaires – du moins en partie – prédateurs notamment de ciliés. On peut supposer également que ces groupes écologiques présentent des stratégies adaptatives différentes, avec des espèces plus ou moins compétitives. Cette hypothèse pourra être approfondie par l'étude des dynamiques de population qui complète l'analyse qualitative présentée ici.

RÉSUMÉ

La recolonisation du sol par les protozoaires a été étudiée expérimentalement dans un humus forestier fumigé à l'oxyde de propylène, autoclavé ou irradié par les rayons gamma, puis ensemencé avec un échantillon d'humus non traité. Des observations périodiques pendant 1 mois ont permis de suivre la diversification du peuplement de ciliés suivant les traitements.

Un total de 11 espèces a été recensé pour les 3 traitements, 6 dans l'humus fumigé ou autoclavé et 10 dans celui irradié. *C. aspera*, *C. inflata*, *P. steinii*, *G. affine*, *U. agiliformis* et *Blepharisma* sp. se sont développés dans l'humus fumigé. Ces espèces ont été présentes également dans l'humus autoclavé, exceptée *Blepharisma* sp. remplacée par *Drepanomonas* sp. Toutes ces espèces ont été rencontrées dans l'humus irradié, à l'exception de *U. agiliformis*. En revanche, *H. adami*, *H. multistilata* sp. et *Chilodonella uncinata* ont été observées uniquement dans ce traitement.

Cette expérience illustre le potentiel de diversification d'un peuplement de ciliés du sol. Trois groupes ont été mis en évidence, comprenant des espèces « indifférentes », « peu sensibles » ou « sensibles » aux variations des conditions édaphiques. La signification écologique d'une telle classification est discutée.

SUMMARY

Experimental study about the growth of protozoa in sterilized soil.
I. — Diversification of the ciliate community

Soil microcosms from a forest humus were sterilized either with propylene oxide, or autoclaved or gamma-irradiated and then amended with untreated humus. Subsequent growth of ciliates was checked periodically during one month, with regard to the community structure for each treatment.

On the whole, 11 species were found, mainly colpodids and hypotrichids: 6 in fumigated or autoclaved humus and 10 in irradiated humus. *C. aspera*, *C. inflata*, *P. steinii*, *G. affine*, *U. agiliformis* and *Blepharisma* sp. occurred in fumigated traitement. The same species were observed in autoclaved humus, excepted *Blepharisma* sp. but with *Drepanomonas* sp. All these species were found in irradiated humus, excepted *U. agiliformis*, while some new forms appeared, *H. adami*, *H. multistilata*, *Spathidium* sp. and *Chilodonella uncinata*.

This experiment showed the potential of diversification of a ciliate community in soil. Three groups appeared including "indifferent", "semi-sensitive" and "sensitive" species with respect to the variations of edaphic conditions. Their ecological signification is discussed.

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement C. A. GROLIÈRE qui m'a permis de travailler dans son laboratoire et pour l'aide qu'il m'a apportée dans la détermination des espèces.

BIBLIOGRAPHIE

BAMFORTH (S.), 1971. — The numbers and Proportions of Testacea and Ciliates in Litters and Soils. *J. Protozool.*, **18** : 24-28.

BAMFORTH (S.). — Terrestrial Protozoa. *J. Protozool.*, **27** : 33-36.

COÛTEAUX (M.M.), 1984. — Utilisation des microcosmes pour l'analyse des fonctions écologiques des protozoaires de l'humus. *Acta Oecol/Oecol. Gener.*, **5** : 71-76.

DARBYSHIRE (J.F.), 1976. — Effect of water suctions on the growth in soil of the ciliate *Colpoda steinii*, and the bacterium *Azotobacter chroococcum*. *J. Soil Sci.*, **27** : 369-376.

FOISSNER (W.), 1980. — Colpodide Ciliaten (Protozoa: Ciliophora) aus alpinen Böden. *Zool. Jb. Syst.*, **107** : 391-432.

FOISSNER (W.), 1982. — Ökologie und Taxonomie der Hypotrichida (Protoza: Ciliophora) einiger österreichischer Böden. *Arch. Protistenk.*, **126** : 19-143.

FOISSNER (W.), 1986. — Neue terrestrishe und limnische Ciliaten (Protozoa, Ciliophora) aus Österreich und Deutschland . *Sber. Akad. Wiss. Wien*, **195** : 218-268.

FOISSNER (W.), 1987. — Soil Protozoa: Fundamental Problems, Ecological Significance, Adaptations in Ciliates and Testaceans, Bioindicators and Guide to the literature. *Progr. Protistol.*, **2** : 69-212.

GROLIERE (C.A.), 1980. — Morphologie et stomatogenèse chez deux ciliés Scuticociliatida des genres *Philaresterides* Kahl, 1929 et *Cyclidium* O.F. Müller, 1786. *Acta Protozool.*, **19** : 195-206.

PALKA (L.), 1988. — Rôle des protozoaires bactériophages dans la minéralisation de l'azote en conditions gnotobiotiques. *Thèse de Doctorat*, Clermont-II, 115 p.

PALKA (L.) & COÛTEAUX (M.M.), 1986. — Aptitude à la croissance de *Colpoda aspera* (Protozoaire cilié) dans un sol humique préalablement stérilisé à l'oxyde de propylène, à l'autoclave et aux rayons gamma. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, **23** : 405-421.

PETZ (W.) & FOISSNER (W.), 1989. — The effect of mancozeb and lindane on the microfauna of a spruce forest: a field study using a completely randomized block design. *Biol. Fertil. Soil*, **7** : 225-231.

STOUT (J.D.), 1955. — Environmental factors affecting the life history of three soil species of Colpoda. *Trans. Roy. Soc. New Zealand*, **82** : 1165-1188.

STOUT (J.D.), 1956. — Reaction of ciliates to environmental factors. *Ecology*, **37** : 178-191.

STOUT (J.D.), 1984. — The protozoan fauna of a seasonally inundated soil under grassland. *Soil Biol. Biochem.*, **16** : 121-125.

STOUT (J.D.) & HEAL (O.W.), 1967. — In: *Soil Biology*, BURGES (R.) Éd., Academic Press, London, 149-195.

TUFFRAU (M.), 1967. — Perfectionnements et pratique de la technique d'imprégnation au protargol des Infusoires Ciliés. *Protistologica*, **3** : 91-98.

VANNIER (G.), 1971. — Signification de la persistance de la pédofaune après le point de flétrissement permanent dans les sols. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **8** : 343-365.

VANNIER (G.), 1978. — La résistance à la dessiccation chez les premiers arthropodes terrestres. *Bull. Soc. Ecophysiol.*, **3** : 13-42.